



Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士（医学）
報告番号	甲第1716号
学位記番号	第1214号
氏名	Baudi Ian
授与年月日	令和1年9月25日
学位論文の題名	<p>Molecular Epidemiology of Co-Infection With Hepatitis B Virus and Human Immunodeficiency Virus (HIV) Among Adult Patients in Harare, Zimbabwe</p> <p>（ジンバブエ共和国ハラレ市の成人における、B型肝炎ウイルスとヒト免疫不全ウイルス重複感染の分子疫学的検討）</p> <p>Journal of Medical Virology 89: 257-266, 2017</p>

Dissertation Summary

Aims: Hepatitis B virus (HBV) and human immunodeficiency virus (HIV) infections are both highly endemic in Africa. Coinfection with HBV and HIV makes patients highly susceptible to severe liver disease, liver cancer and early death. However, there is scanty data on the nature and extent of HBV-HIV coinfection in the African population. This study was conducted to determine the prevalence of HBV coinfection among HIV patients and to identify the patient demographic and clinical characteristics associated with HBV-HIV coinfection in Zimbabwe. Furthermore, the genotypes and clinically relevant mutants of both HBV and HIV among these patients were identified.

Methods: One hundred and seventy-six pre-treatment adult HIV-positive patients were recruited into the study at a public HIV clinic in Harare city, after eligibility interview and obtaining informed consent. To determine the prevalence of HBsAg positivity, blood samples were screened for HBV surface antigen (HBsAg) using highly sensitive chemiluminescent immunoassay. The association between HBV-HIV coinfection and patient demographics was assessed. In addition, host immune status and liver fibrosis were determined by CD4⁺ T cell counts and the non-invasive indices (i.e., FIB-4 and APRI that are calculated using patient age, liver transaminase and platelet count) to assess whether these parameters were associated with HBV-HIV coinfection. Plasma viral load was quantitated by real-time PCR to select samples with sufficient titers for Sanger-based population sequencing after nested PCR. Molecular evolutionary analysis was then performed to identify the HBV and HIV genotypes and mutations related to drug resistance, immune and/or detection escape.

Results: Out of the 176 HIV patients enrolled into this study, 19 (10.8%) were HBsAg-positive. HBV/HIV coinfection was significantly associated with being male ($p=0.009$), lower median CD4⁺ T cell counts ($p=0.016$) and higher FIB-4 and APRI scores ($p=0.0001$) compared with HIV-mono infection in this cohort. Twelve of the 19 HBsAg-positive samples had detectable HBV DNA and 7 were successfully sequenced in the basal core promoter/precore (BCP/PC) and small surface antigen regions. Phylogenetic analyses revealed that all 7 isolates belonged to HBV subgenotype A1. BCP/PC mutations associated with hepatocellular carcinoma (HCC) development were identified. These include 1762T ($n=3$) and 1764A ($n=4$). Candidate detection escape mutations in the small surface antigen (M133I/T and D144G) were detected in two out of 7 isolates. Furthermore, 3 isolates that were fully sequenced clustered with those from the South African region. Surprisingly, PreS2 deletion mutations were identified in 2 out of the 3 fully sequenced isolates and one of these two also had PreS1 deletion. For HIV, 164 isolates were successfully sequenced in the *protease-reverse transcriptase* regions. All except one isolate (99.4%) were classified as HIV-1 subtype C. Interestingly, 9.8% (16/164) of these HIV isolates had drug resistance mutations associated with non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs), predominantly among female patients suggestive of undisclosed NNRTI exposure or transmitted drug resistance.

Discussion: We identified high prevalence of HBV-HIV coinfection in a Zimbabwean HIV cohort and performed the first detailed viral genetic analyses on both HBV and HIV isolates from these patients. The HBV-HIV coinfecting patients are characterized by high fibrosis indices, which collectively are strong prognostic markers of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC) development. Therefore, rigorous screening for HBV and HCC is recommended in Zimbabwean HIV patients for early optimized treatment and management.

論文審査の結果の要旨

【背景】 Human Immunodeficiency Virus (HIV)と Hepatitis B Virus (HBV)の共感染者の拡大が南アフリカ地域では公衆衛生上の重要な問題となっている。HIV と HBV 両者に有効な核酸アナログ製剤である Tenofovir と Lamivudine が広く治療に使用されているが、Virus mutationによる薬剤耐性も問題となっている。HIV の共感染により慢性 B 型肝炎の自然史も変化し、慢性肝炎の進行が促進される可能性も指摘されている。Zimbabwe 共和国は、人口 130 万人で、成人の HIV 陽性率は約 15%、血液ドナーにおける HBsAg 陽性率は約 0. 5%、肝細胞癌患者における HBsAg 陽性率は 48. 3%、HIV 患者における HBsAg 陽性率は 11-17%とされている。一般人口における HBsAg 陽性率は 15%とされている。

【目的】本研究では、横断的に Zimbabwe の Harare 市の 176 例の抗 HIV 療法を導入していない HIV 感染者（18 歳以上で文書による同意を得た患者、年齢中央値 35 歳）の血漿検体を用い、HBV 感染状況、HIV および HBV の遺伝子配列の解析による分子疫学的検討、病態との関連につき検討した。

【方法・結果】HBsAg, HBeAg は高感度 Chemiluminescent Immunoassay 法で、HBV の配列は DNA 抽出後 PCR で増幅、HIV は RNA 抽出後 RT-PCR で増幅し、ABI 3500, ABI 3730 genetic analyzer を用いて配列が決定された。

176 人（女性が 65. 7%）のうち 19 人(10.8%)例で HBV 持続感染（HBsAg 陽性）をみると、有意に HBsAg 陽性率は男性の方が高かった($p=0.009$)。HBV/HIV 共感染者では HIV 単独感染者に比べ CD4 が有意に低値であった($p=0.016$)。HBV 感染者 7 例において HBV の遺伝子配列を確認できた。すべて genotype A1 で、薬剤耐性変異はなく、コアプロモーター/プレコア（BCP/PC）領域の変異を少なくとも 1 か所有した。PreS 領域の変異や small S 領域の変異も同定された。

164 例で HIV の遺伝子配列を確認でき、1 例の subtype F1 を除きその他はすべて subtype C であった。16 例（9.8%）は少なくとも 1 つの非核酸系逆転写酵素阻害剤に対する耐性変異を有しており、その大部分は女性であった。

【考察】本研究で測定したサンプルの HbsAg titre は低値で、南アフリカ地域の HBV 感染のほとんどが水平感染であることに起因すると推測された。Zimbabwe のサンプルでは HBV subtype A1 のみであった。近隣の Botswana のサンプルの報告では type A, D, E も報告されている。Subtype A1 は南アフリカが起源と言われている。HIV-1C は、Zimbabwe で排他的に多いと言われている。HIV/HBV 共感染は B 型肝炎の進行を早め、肝硬変、肝細胞癌への進行を促進している可能性が考えられる。本研究の limitation としては、サンプルの量が少なく、HBV の seromarker などの測定が不可能であったこと、cross-sectional な検討で、患者の臨床情報などの詳細が不明なため、長期間での HIV/HBV 共感染の臨床的意義、影響や、薬物療法の効果などの評価が不可能である。

【結語】本研究により Zimbabwe 地域で HIV 患者の中に HBV 共感染の患者が存在することが明らかになり、今後、この地域での HIV 陽性者における HBV スクリーニング検査、モニタリングの強化の必要性が示唆された。

【審査内容】本人による 15 分ほどのプレゼンの後に、第一副査の山崎教授からは、HIV と HBV の重複感染で Fibrotic marker が上がるメカニズム、肝硬変との関連性、HIV と HBV の genotype と地理的な関係、HIV と HBV の重複感染による予後への関連、本論文を仕上げるに当たり一番大変であったこと、など 7 項目の質問があった。

第二副査の大原教授からは、HIV と HBV の重複感染が男性に多い理由、HIV 患者における HBsAb 陽性の割合、今後の発展的な研究の展望、Zimbabwe における HIV 患者治療の現況などにわたり計 5 項目の質問があった。

主査の片岡教授からは、HIV と HCV 重複感染者における男女差、またその原因について、Figure3 における Kozak sequence の意義、同部位の mutation の重要性、HBV/HIV 共感染者に対する薬物療法など計 5 項目の質問があった。

これらの質問に対し、おおむね満足すべき回答が得られ、学位論文の主旨を十分理解していると判断した。よって、これらの新しい知見を報告している本論文の筆頭著者は博士（医学）の学位を授与するに相応しいと判断した。

論文審査担当者 主査 片岡洋望教授 副査 山崎小百合教授 副査 大原弘隆教授